

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Minuman Probiotik

Minuman probiotik adalah jenis minuman fungsional yang memiliki efek kesehatan serta mengandung mikroba hidup atau biasa disebut probiotik. Probiotik sendiri merupakan bakteri hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam usus dan mencegah serta menyeleksi mikroba yang tidak berfungsi (Primurdia dan Kusnadi, 2014).

Probiotik yang terkandung di dalam minuman probiotik memiliki beberapa keuntungan yaitu dari segi nutrisi maupun terapeutik. Dari segi nutrisi probiotik dapat meningkatkan jumlah produksi riboflavin, niasin, thiamin, vitamin B₆, vitamin B₁₂, asam folat; meningkatkan jumlah ketersediaan kalsium, besi, mangan, tembaga, dan fosfor bagi tubuh; serta meningkatkan daya cerna dari protein serta lemak (Thantsha *et al.*, 2012). Dari segi terapeutik, bakteri probiotik diklaim dapat mencegah terjadinya beberapa kondisi seperti *lactose intolerance*, alergi, diare, menurunkan kadar kolesterol, mencegah kanker usus besar, serta menghambat keberadaan bakteri patogen yang terdapat di dalam sistem pencernaan (Halim dan Zubaidah, 2013).

Minuman probiotik diolah dengan cara memanfaatkan probiotik tertentu untuk membantu proses fermentasi bahan. Jenis probiotik yang biasa digunakan berasal dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Lee dan Salminen, 2008). Bakteri probiotik ini dapat bertahan hidup dalam saluran pencernaan setelah

dikonsumsi serta mampu bertahan pada kondisi asam lambung yang cenderung asam (Retnowati dan Kusnadi, 2014). Suatu produk dapat dikatakan sebagai produk probiotik apabila produk tersebut mengandung bakteri probiotik yang masih hidup sampai di saluran pencernaan sebanyak 10^6 cfu/ml (Umam *et al.*, 2012).

Bahan yang biasa digunakan adalah susu karena kadar laktosanya yang tinggi dan kaya akan nutrisi sehingga cocok sebagai tempat tumbuh probiotik. Tetapi saat ini, tidak hanya susu yang dapat menjadi bahan baku pembuatan minuman probiotik. Sayuran, buah, sereal, dan kacang-kacangan dapat diolah menjadi suatu produk yang mengandung probiotik, khususnya buah dan sayur yang telah terbukti dapat menjadi media yang baik bagi pertumbuhan probiotik dikarenakan kelengkapan kandungan nutrisinya (Perricone *et al.*, 2015).

2.2. Fermentasi

Fermentasi adalah proses pemecahan senyawa makromolekul menjadi mikromolekul dengan bantuan mikroba. Pada pembuatan minuman probiotik, proses fermentasi dibantu dengan bantuan bakteri probiotik, yang merupakan bakteri asam laktat. Glukosa yang terkandung di dalam substrat atau media akan dirombak menjadi senyawa-senyawa yang lebih kecil tergantung dari jenis fermentasinya. Glukosa akan dirombak menjadi dua molekul asam piruvat pada proses glikolisis disertai dengan pembentukan dua $\text{NADH} + \text{H}^+$ (Pelczar dan Chan, 2008). Pada grup bakteri asam laktat, asam piruvat yang terbentuk pada jalur glikolisis bertindak sebagai penerima hidrogen, di mana reduksi asam piruvat

oleh NADH_2 akan menghasilkan asam laktat (Rahayu dan Nurwitri, 2012). Produksi asam laktat ini dapat mengakibatkan turunnya pH yang menyebabkan rasa asam pada produk.

2.3. *Lactobacillus fermentum*

Lactobacillus fermentum merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat yang termasuk ke dalam kategori bakteri probiotik, dikarenakan kemampuannya dalam bertahan hidup pada saluran pencernaan manusia dan cenderung tahan terhadap lingkungan asam. Beberapa strain *Lactobacillus fermentum* dapat bertahan hidup pada lingkungan asam hingga pH 3 (Bao *et al.*, 2010). Beberapa strain *Lactobacillus fermentum* juga memiliki ketahanan terhadap garam empedu hingga konsentrasi 0,3-2,0% (Mikelsaar dan Zilmer, 2009). *Lactobacillus fermentum* bersifat anaerob fakultatif dimana dapat hidup dengan baik dengan atau tanpa adanya oksigen (Sengupta, 2014). Bakteri ini termasuk ke dalam golongan bakteri asam laktat heterofermentatif dikarenakan selain menghasilkan asam laktat, juga dihasilkan asam asetat, asam suksinat, CO_2 , bakteriosin, dan H_2O_2 yang dapat bersifat sebagai antimikroba (Tulumoglu *et al.*, 2014). Mengonsumsi *Lactobacillus fermentum* dalam jumlah yang cukup tinggi yaitu lebih dari 10^{11} cfu/ml telah terbukti tidak memiliki efek yang negatif terhadap tubuh. Oleh karena alasan tersebut, bakteri ini sering diaplikasikan penggunaannya pada berbagai pengolahan pangan serta telah diakui oleh USFDA (*United States Food and Drug Administration*) sebagai GRAS (*Generally Recognized as Safe*) (Songisepp *et al.*, 2005).

Lactobacillus fermentum telah terbukti dapat bertahan dan menempel pada sel epitel sistem pencernaan manusia serta dapat menyeimbangkan jumlah mikroflora usus dengan cara bersifat antagonis terhadap beberapa jenis bakteri patogen. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk menekan pertumbuhan bakteri khususnya bakteri Gram-negatif (Mikelsaar dan Zilmer, 2009). Jenis bakteri patogen yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh *Lactobacillus fermentum* antara lain *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. flexneri*, dan *S. typhimurium* (Bao *et al.*, 2010). Bakteri ini dapat pula menghambat produksi beta toksin *Clostridium perfringens* yang dapat menyebabkan beberapa penyakit pada sistem pencernaan (Allaart *et al.*, 2011). Selain itu, *Lactobacillus fermentum* terbukti dapat menurunkan jumlah LDL (*low density lipoprotein*) dalam tubuh tetapi tidak dapat meningkatkan jumlah HDL (*high density lipoprotein*) (Tsai *et al.*, 2014). Kemampuan *Lactobacillus fermentum* dalam menghasilkan asam lemak berantai pendek seperti asam propionat dan dekonjugasi garam empedu merupakan beberapa hal yang dapat berpengaruh terhadap mekanisme penurunan LDL (Pereira *et al.*, 2003).

Lactobacillus fermentum mengandung kandungan asam ferulat esterase yang dapat digunakan untuk mengaktifkan asam ferulat (Duchesneau *et al.*, 2012). Asam ferulat merupakan senyawa polifenol yang banyak ditemukan di tumbuhan dan memiliki banyak sekali manfaat bagi kesehatan, salah satunya adalah bersifat antioksidan (Omar *et al.*, 2013). *Lactobacillus fermentum* termasuk kedalam jenis bakteri asam laktat yang memiliki daya antioksidan tinggi. Hal ini dikarenakan

bakteri ini mengandung glutathione yang merupakan senyawa antioksidan endogen non enzimatis dan dapat mengeliminasi radikal bebas (Kullisaar *et al.*, 2010).

2.4. Tomat Sebagai Bahan Baku Minuman Probiotik

Tomat merupakan jenis sayuran yang tumbuh dalam bentuk tumbuhan setahun, berbetuk perdu, dan termasuk ke dalam golongan tanaman berbunga yang dapat dengan mudah ditemukan di Indonesia. Tomat memiliki kandungan nutrisi, mineral, serta vitamin yang terbilang cukup lengkap. Mayoritas varietas dari tomat mengandung 4,5-7,0% zat terlarut air yang sebagian besar merupakan fruktosa dan glukosa, serta asam utama yang terkandung di dalam tomat adalah asam sitrat (Mariska, 2009). Kandungan gula yang terdapat di dalam tomat berkisar antara 3,2-5,6% tergantung dari tingkat kematangannya (Johansyah *et al.*, 2014). Kandungan gula inilah yang menyebabkan tomat dapat digunakan sebagai media fermentasi bakteri probiotik. Tomat juga telah terbukti sebagai media pertumbuhan yang baik bagi beberapa jenis bakteri seperti *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Lactobacillus brevis* (Perricone *et al.*, 2015). Selain nutrisi yang lengkap, tomat juga mengandung senyawa antioksidan likopen, provitamin A, vitamin E, vitamin C senyawa fenolik, serta flavonoid yang sangat baik dalam mengurangi resiko timbulnya berbagai macam kanker karena bersifat antioksidan (Riahi dan Hdider, 2012). Kandungan nutrisi buah tomat dapat secara lengkap dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Nutrisi Buah Tomat Per 100 gram (Mataram dan Wahyuniari, 2013)

Nutrien	Satuan	Kandungan
Air	gram	93,76
Energi	kkal	21,00
Protein	gram	0,85
Total lemak	gram	0,33
Karbohidrat	gram	4,64
Serat	gram	1,10
Abu	gram	0,42
Kalsium	mg	5,00
Zat besi	mg	0,45
Magnesium	mg	11,00
Fosfor	mg	24,00
Kalium	mg	222,00
Natrium	mg	9,00
Seng	mg	0,09
Tembaga	mg	0,07
Mangan	mg	0,11
Selenium	mg	0,40
Vitamin C	mg	19,10
Thiamin	mg	0,06
Riboflavin	mg	0,05
Niasin	mg	0,63
Vitamin B ₁₆	mg	0,08
Vitamin A	IU	623,00
Vitamin E	mg	0,34

2.5. Likopen

Likopen (α -karoten) merupakan suatu karotenoid pigmen merah terang yang banyak ditemukan di dalam buah tomat atau buah-buahan lain yang berwarna merah. Likopen merupakan pigmen alami yang disintesis oleh tanaman dan mikroba, berbentuk isomer asiklik dari β -karoten, tidak memiliki aktivitas sebagai vitamin A. Di dalam tomat yang matang dan berwarna merah kandungan likopen tinggi yaitu dapat mencapai 4600 $\mu\text{g}/100$ gram (Mataram dan Wahyuniari, 2013). Likopen merupakan karotenoid yang termasuk ke dalam salah

satu antioksidan yang sangat kuat dimana kemampuan mengendalikan radikal bebasnya mencapai dua kali lebih tinggi dari β -karoten dan 10 kali lebih efisien dibandingkan vitamin E atau 12500 kali dari pada glutathione (Wang *et al.*, 2014 dan Mu'nisa, 2012). Proses pengolahan dapat meningkatkan konsentrasi likopen di dalam produk olahan tomat. Proses pengolahan dapat memecah sel matriks tomat dan menyebabkan karotenoid dan likopen semakin keluar (Bartkiene *et al.*, 2013). Salah satu proses yang bisa dilakukan adalah dengan adanya pemanasan. Kandungan likopen dapat bertambah secara signifikan setelah dipanaskan pada suhu 88°C selama 30 menit (Koh *et al.*, 2010). Likopen dapat menjadi tidak stabil keberadaannya saat mengalami proses pemanasan pada suhu sekitar 100°C (Mayeaux *et al.*, 2006).

Likopen memiliki jumlah ikatan rangkap konjugasi yang tinggi sehingga menjadi salah satu senyawa karotenoid yang berpotensi menjadi senyawa antioksidan kuat. Beberapa manfaat likopen bagi kesehatan adalah dapat menghambat serta mencegah tumbuhnya sel kanker dan tumor, mencegah serta mengobati diabetes, mengobati osteoporosis, dan melindungi kesehatan kardiovaskular (Wang *et al.*, 2014). Selain itu likopen yang terkandung di dalam tomat dapat pula mengurangi jumlah LDL yang telah teroksidasi yang dapat menyebabkan pembentukan plak pada dinding arteri (Bhowmik *et al.*, 2012). Kisaran likopen yang dapat diserap oleh tubuh adalah sebanyak 1,8 hingga 14,3 mg dengan rata-rata 4,7 mg per harinya (Story *et al.*, 2010).

2.6. Parameter Kualitas Minuman Probiotik Tomat

Parameter kualitas minuman probiotik tomat terdiri dari aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat, pH, serta organoleptik meliputi cita rasa asam, warna merah, dan tingkat kesukaan *overall*.

2.6.1. Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang pada konsentrasi rendah secara signifikan dapat menghambat atau mencegah oksidasi substrat. Antioksidan dapat melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul yang tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas. Antioksidan dapat mendonorkan elektronnya kepada molekul radikal bebas sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai (Ingrid dan Santoso, 2014).

Pada pengujian ini diukur total aktivitas antioksidan yang terdapat pada minuman probiotik tomat. Antioksidan yang terkandung pada tomat sebagian besar berupa likopen, dan sisanya dapat berupa asam askorbat, β -karoten, dan lutein (Kotikova *et al.*, 2011). Pembentukan asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi juga dapat menyumbang aktivitas antioksidan. Asam laktat mengandung senyawa α -hydroxyacids (AHA) yang dapat berfungsi sebagai antioksidan (Umam *et al.*, 2012).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada buah tomat yang difermentasi dengan *Bifidobacterium breve* diperoleh jumlah antioksidan likopen sebesar 112,1 $\mu\text{g/g}$ (Koh *et al.*, 2010). Hasil untuk total aktivitas antioksidan

dimungkinkan dapat lebih tinggi, mengingat adanya kandungan antioksidan lain pada tomat selain likopen dan adanya pembentukan asam laktat.

2.6.2. Total Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat hidup pada berbagai habitat khususnya pada saluran pencernaan. Bakteri asam laktat dapat memproduksi senyawa organik hidrogen peroksida, diasetil, dan bakteriosin (Utami, 2011). Keberadaan bakteri asam laktat di dalam saluran pencernaan manusia dapat memberikan efek yang baik bagi kesehatan pencernaan. Produk yang dapat dikatakan sebagai produk probiotik harus mengandung bakteri probiotik atau bakteri asam laktat minimal 10^7 cfu/ml (Primurdia dan Kusnadi, 2014). Berdasarkan penelitian sebelumnya, proses fermentasi tomat dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* dengan lama fermentasi 48 jam menghasilkan total bakteri asam laktat sebanyak 3×10^7 cfu/ml dan $2,95 \times 10^7$ cfu/ml (Kaur *et al.*, 2016). Total bakteri asam laktat dapat berasal dari bakteri yang sengaja ditambahkan maupun dari bakteri asam laktat yang memang sudah terkandung sejak awal di dalam bahan.

2.6.3. Nilai pH

Nilai pH merupakan derajat nilai yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman suatu bahan. Nilai pH berkaitan erat dengan produksi asam. Pada proses fermentasi bakteri asam laktat akan menghasilkan sejumlah asam

laktat serta beberapa asam lain yang dapat menurunkan nilai pH (Umam *et al.*, 2012). Beberapa asam lain yang mungkin terbentuk adalah asam asetat dan asam suksinat yang merupakan hasil samping dari metabolisme *Lactobacillus fermentum* selama proses fermentasi (Mikelsaar dan Zilmer, 2009). Kandungan asam sitrat serta asam askorbat (vitamin C) yang terkandung dalam buah tomat juga dapat mempengaruhi nilai pH produk. Semakin banyak kandungan asam sitrat dan asam askorbat maka nilai pH dari produk akan semakin menurun dan dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri probiotik. Nilai pH juga dapat mengindikasikan banyak atau tidaknya bakteri asam laktat yang terkandung di dalam suatu produk.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, proses fermentasi tomat dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* selama 48 jam menghasilkan produk dengan pH sebesar 4,1. Hasil ini berbeda dengan produk fermentasi tomat yang difermentasi oleh bakteri *Lactobacillus casei* selama 48 jam yang menghasilkan pH sebesar 3,9 (Kaur *et al.*, 2016).

2.6.4. Organoleptik Cita Rasa Asam

Cita rasa merupakan sensasi yang timbul akibat adanya suatu bahan atau senyawa tertentu yang dapat dirasakan dengan menggunakan indra pengecap (lidah) dan indra pembau (hidung). Cita rasa asam dari produk dihasilkan dari terbentuknya asam laktat serta asam lain, seperti asam asetat, akibat proses fermentasi oleh bakteri probiotik dengan memanfaatkan kandungan gula pada bahan (Umam *et al.*, 2012). Nilai pH yang diperoleh juga dapat berpengaruh

terhadap cita rasa asam dari produk. Semakin rendah pH maka rasa produk akan semakin asam. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa pada produk minuman probiotik tomat yang difermentasi dengan *Lactobacillus plantarum* menghasilkan rasa yang sangat asam (Wijayanti *et al.*, 2012).

2.6.5. Organoleptik Warna Merah

Warna merupakan salah satu aspek organoleptik penting yang terdapat di dalam suatu produk pangan. Semakin menarik warna yang dimiliki suatu produk maka akan menambah daya tarik tersendiri bagi konsumen. Warna merah pada produk diperoleh dari kandungan likopen yang terkandung di buah tomat (Febriansah *et al.*, 2004). Semakin matang buah tomat maka kandungan likopennya akan semakin tinggi pula yang menyebabkan warnanya akan semakin merah. Warna merah pada tomat diperoleh dari hasil perombakan klorofil yang dibarengi dengan sintesis pigmen likopen (Novita *et al.*, 2015). Tingkat kemerahan suatu produk tomat juga dapat disebabkan karena adanya pengaruh pemanasan. Pemanasan dapat meningkatkan kandungan likopen pada tomat sehingga warna produk yang dihasilkan akan semakin merah (Koh *et al.*, 2010).

2.6.6. Tingkat Kesukaan Overall

Tingkat kesukaan *overall* adalah uji penerimaan serta uji kesukaan organoleptik panelis terhadap produk secara keseluruhan, baik dari segi rasa, aroma, tekstur, dan warna (Umam *et al.*, 2012). Tingkat kesukaan overall ini dapat menggambarkan daya terima konsumen terhadap produk yang dihasilkan.

Semakin besar presentasi konsumen yang menyukai produk yang dihasilkan, maka akan semakin besar pula peluang produk diterima oleh konsumen.